fait changer ces rapports. Pendant l'ontogenèse, deux phénomènes caractérisent l'établissement de l'état définitif: premièrement, les cellules embryonnaires sont pauvres en ions, spécialement en Na et Cl, tandis que le K semble être établi à une valeur définitive dès le début. La faible concentration en protides est un indicateur, que la cellule embryonnaire se trouve dans un état plus dilué que la cellule musculaire cardiaque adulte. Deuxièmement, le processus d'augmentation de la concentration ionique pendant l'ontogenèse est lent et graduel pour le Na et le Cl, rapide pour le Ca et les phosphates.

BIBLIOGRAPHIE

BETHE, A. 1952, in *Allgemeine Physiologie.* Springer.

HUGGEL, H. 1952. *Temperaturabhängigkeit und Herzfrequenz des embryonalen Herzschlauches bei der Forelle (Salmo irideus).* Revue suisse de Zoologie, tome 59, (nº 13).

— A. KLEINHAUS et M. HAMZEHPOUR. 1963. *Composition du sang de Salmo gairdneri irideus et Squalius cephalus.* Revue suisse de Zoologie, tome 70, fasc. 2 (nº 18).

PROSSER, C. L. and F. A. BROWN. 1961. *Comparative Animal Physiology.* Saunders.

Nº 28. **Ch. H. Taban, P. Charollais, F. Bersier.** — Contrôle immunologique de la régénération (IV) (Avec 7 figures dans le texte)

I. POURQUOI UN CONTRÔLE IMMUNOLOGIQUE DE LA RÉGÉNÉRATION EST-IL PENSABLE ?

Un des problèmes essentiels de la biologie contemporaine est certainement celui de la différenciation cellulaire.

Depuis les travaux de MONOD, JACOB et des nombreux chercheurs qui se sont adressés à un matériel génétique relativement simple comme celui des bactériophages de colibacilles, nous savons que la synthèse d'enzymes, de protéines, nécessite la présence *d'opérons.* Ceux-ci peuvent être réprimés ou inversément déréprimés. S'ils sont réprimés ils ne peuvent extérioriser leurs potentialités. La répression peut être consécutive à l'action de répresseurs différents.

L'idée de base de nos expériences est qu'un de ces types de répression peut être d'ordre immunologique, ou tout au moins être mis en évidence par des méthodes immunologiques.

Jusqu'à quel point une répression peut être déréprimée est encore mal connu lorsqu'il s'agit de différenciation cellulaire. Les expériences de transplantation nucléaire ont conduit leurs auteurs à parler plutôt de délétions ou de mutations somatiques, au cours de la différenciation (FISCHBERG ET COLL.).

Pour ce qui concerne la patte du triton, les cellules de la zone patte se comportent d'une manière qui ne contredit pas la théorie de MONOD. En effet on peut admettre que lorsque la patte est normalement en place, elle informe les cellules de la base de la patte. Cette information doit être envoyée par diffusion de substances répressives. Si l'on sectionne la patte, cette répression n'est plus exercée et les cellules de la base, au départ bien différenciées, deviennent capables de reformer cette patte selon un modèle strict, chaque segment ne pouvant régénérer que les parties les plus distales (BISCHLER). Ce modèle n'a rien à voir avec une demande fonctionnelle, mais est en rapport direct avec l'entourage, les territoires. L'influence des cellules voisines du régénérat est très importante, comme il ressort du travail fondamental de GUYÉNOT, DINICHERT-FAVARGER et GALLAND. Ces auteurs avaient mis les phénomènes de régulation observés, sur le compte de la facilité plus ou moins grande de transport des matériaux nécessaires à l'édification du régénérat: « On peut penser qu'ils se sont trouvés en dehors du courant qui faisait affluer vers la surface du moignon les matériaux formateurs et que, pour cette raison, leur différenciation a été inhibée. A plusieurs reprises des palettes paraissant normales, avec indication de deux ou trois doigts, ont, en effet, subi une involution ultérieure », écrivent-ils en parlant de résultats de déviation du nerf brachial dans le stylopode.

Nous pensons que les résultats qu'ils ont observés peuvent être interprétés maintenant, comme la conséquence de répressions spécifiques, hautement hiérarchisées, le problème de la nutrition du bourgeon nous paraissant moins important.

A ce propos nous voulons signaler que si l'on déplace la patte antérieure de 5 mm. en direction dorsale et que l'on incite une régénération au lieu habituel de croissance du membre, par déviation de nerf, on obtient une patte en miroir. Sur six animaux opérés de la sorte deux ont donné une patte en miroir (fig. 1). Chez les quatre autres la patte déplacée a glissé assez rapidement vers le lieu normal d'insertion du membre, et aucun membre supplémentaire n'a été obtenu.

Chez les deux animaux qui ont donné une patte surnuméraire, il convient de signaler que la patte déplacée a présenté d'abord une atrophie avec dégénérescence de la partie distale de la patte, et régénération secondaire.

Nous pensons que la patte droite déplacée a agi sur la zone habituelle d'insertion du membre. Elle a réprimé les possibilités de croissance d'une patte droite, d'où l'obtention d'une patte gauche, en miroir, mais poussant précisément à l'endroit d'insertion normal d'une patte droite.

Nous attendons d'avoir une série plus nombreuse pour publier ces résultats *in extenso.*

Ces résultats infirment l'importance accordée à l'afflux des matériaux, par facilité d'accès. GUYENOT n'attachait d'ailleurs à cette théorie qu'une importance relative et il terminait son travail en disant: « ... les déterminations de l'asymétrie, ou de l'axe dorso-ventral n'auraient pas une valeur absolue, mais qu'elles résulteraient de l'équilibre, du rapport, entre les doses de deux systèmes antagonistes ».

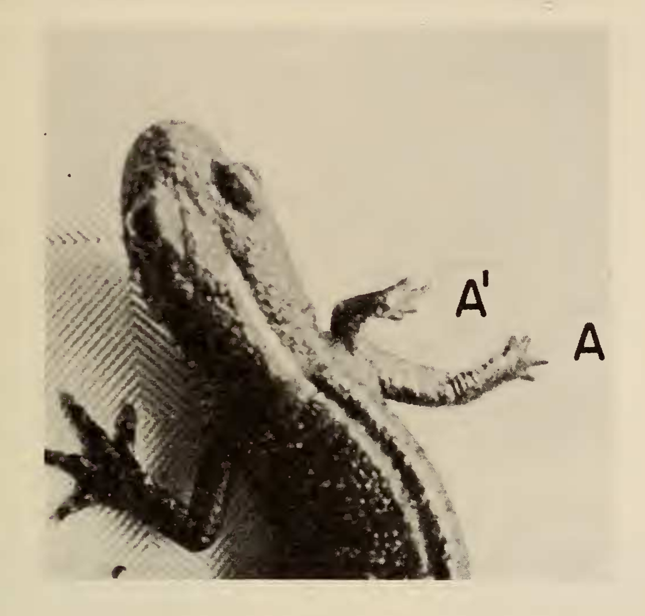


FIG. 1.

Photographie d'un triton présentant deux pattes antérieures à droite. La patte originale a été déplacée et transplantée de 5 mm. environ en direction dorsale, elle est marquée A. Le lieu normal d'implantation de la patte a été stimulé par l'un des nerfs de la patte originale, il en est résulté une patte en miroir, patte gauche présente au lieu usuel d'implantation de la patte droite (marquée A', la paume de la patte tournée vers le haut).

Choix du matériel et des méthodes :

La faculté des cellules du triton, d'être à la fois bien différenciées et capables de régénérer est très remarquable. C'est pourquoi le triton nous a paru un animal expérimental de choix. Nous avons travaillé sur *Triton cristatus L.*

Pour analyser le phénomène de la régénération il y a deux façons essentielles: 1) analyser le ou les facteurs inducteurs, 2) analyser le terrain sur lequel il ou ils agissent.

De nombreux auteurs se sont attachés à déterminer les *facteurs stimulants* la régénération, comme parallèlement les embryologistes s'attachaient au concept d'*induction* (SPEMAN) avec la détermination de *centre organisateur* (amphibiens) ou *différenciateur* (insectes).

Le facteur stimulant nécessaire à la régénération est le nerf (Locatelli, Guyenot, Singer). Les expériences de régénération de membres aneurogéniques (Yntema), ne remettent pas en question l'importance du nerf, mais permettent des perspectives nouvelles sur son mode d'action [1].

De nombreux auteurs (et nous en sommes) ont tenté de remplacer l'action du nerf par des substances chimiques, médiatrices. A ce jour aucun succès n'a été obtenu. On ignore la nature du ou des produits stimulants, synthétisés certainement abondamment par la cellule nerveuse dont les axones sont en voie de régénération.

L'analyse du terrain sur lequel s'exercent ce ou ces facteurs a été tentée de plusieurs manières: par déviations de nerf, greffes et transplantations (Guyenot, Kiortsis, Thornton, Taban), par action hormonale (Schotte), irradiations (Butler), action de substances inhibitrices (Thornton). Dans tous ces domaines les expérimentateurs ont été nombreux et il n'est pas question de les citer tous ici.

Nous nous arrêterons pourtant à quelques travaux récents dont l'idée directrice nous paraît assez proche de la nôtre.

Rose a montré que chez *Tubularia*, des extraits mis en présence d'animaux amputés, inhibent la croissance des zones correspondantes et des zones qui leur sont distales. Cette spécificité disparaît en milieu acide. Les produits actifs peuvent être séparés par électrophorèse.

Zalokar avait montré que la réimplantation du cristallin que l'on vient d'enlever inhibe toute régénération. Smith a montré que certaines fractions protéiques du cristallin sont plus inhibitrices que d'autres. Sones a prouvé que cette information que j'appellerai répressive est en solution dans l'humeur aqueuse et qu'elle peut transiter à travers des membranes poreuses de 0,08 à 0,2 μ. Reyer a vu que la croissance de tissu cristallinien embryonnaire greffé dans la chambre antérieure de l'œil est inhibée par la présence du cristallin.

Langman, Maisel et Squires ont observé que le cristallin d'embryons de poulet soumis à l'action de sérum de lapin anti-cristallin, est anormal. En présence de sérum anti-cristallin des vésicules optiques en culture sont incapables de susciter la genèse d'un cristallin, alors qu'elles le peuvent parfaitement en présence de sérum de lapin normal (Clarke).

Laufer, dans une étude approfondie, a suivi le sort des muscles dans le blastème, en injectant des anticorps anti-actomyosine et anti-myosine. Il a observé également un effet toxique général sur les cellules du blastème, causé par les protéines étrangères au triton, et surtout un effet destructif beaucoup plus intense des anticorps anti-myosine et anti-actomyosine sur la croissance des tissus musculaires. Ces observations confirment l'idée d'une action locale importante des anticorps sur le tissu du bourgeon de régénération. Elles montrent aussi la diffi-

---

[1] Voir les théories séduisantes développées par M. Singer (1965).

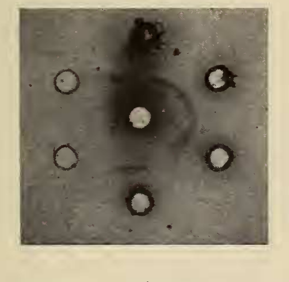
culté d'obtenir un effet spécifique, un anticorps exempt d'un effet surajouté par les protéines associées. Seuls les résultats comparatifs de séries témoins permettent d'évaluer l'effet d'anticorps différents.

Nous ne voulons pas multiplier les exemples. Ceux-ci suffisent à montrer que les méthodes immunologiques appliquées à l'étude de la régénération peuvent apporter des connaissances intéressantes. Les phénomènes immunologiques sont d'ailleurs très généraux et nullement l'apanage d'individus hautement différenciés, puisque SERRE et THEODOR les ont retrouvés chez des invertébrés (gorgones).

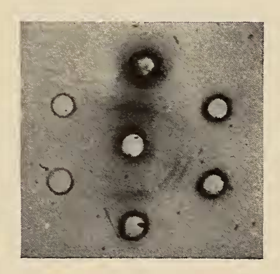
Enfin il nous paraît intéressant de rappeler que si les jeunes embryons et larves sont capables de garder des homogreffes, celles-ci sont rejetées par les animaux plus âgés (BOOBJERT, BRENT, VOLPE, et d'autres). Il est tentant d'établir un parallèle entre cette diminution de la tolérance immunologique et l'augmentation du degré de différenciation cellulaire.

Nous avons appliqué les méthodes immunologiques en utilisant l'immunité passive. Nous avons soumis des tritons en voie de régénération à l'action de sérum de lapin préparé anti-triton. Nous avons observé l'effet macroscopique, et l'effet histologique en utilisant des anticorps rendus fluorescents.

Nous avons vérifié la présence des anticorps dans le sérum de lapin (fig. 2). L'antigène broyat de « main » de triton donne une ligne de précipité, l'antigène broyat de patte donne au moins deux lignes. Nous sommes donc bien certains



A



B

FIG. 2.

A) Immunogramme. Au centre se trouve un broyat de « main » de triton, dilué dans le sérum physiologique, puis reconcentré. A « midi » se trouve un sérum de lapin « anti-main » concentré quatre fois, à 2 heures: concentré deux fois, à 4 heures: simple, à 6 heures: dilué deux fois. 8 heures et 10 heures: témoins. On voit nettement une ligne de précipitation. B) Immunogramme. Au centre se trouve du broyat de « bras » de triton, dans du sérum physiologique. A « midi » se trouve du sérum de lapin « anti-bras » concentré quatre fois; à 2 heures: concentré deux fois; à 4 heures: simple; à 6 heures: dilué deux fois. On distingue nettement cette fois au moins deux lignes de précipités.

que le sérum de lapin préparé anti-triton contient des anticorps spécifiques. Nous avons pour le moment renoncé à préparer des antisera tissulaires purs, et cela pour des raisons techniques.

II. Effets du sérum de lapin anti-triton sur les régénérats[1]

Nous avons préparé des lapins « anti-triton » en leur injectant sous forme de suspension dans du sérum physiologique, des broyats de tissus de triton. Comme tissus différents, nous avons choisi la patte, le cerveau (vu l'importance du nerf dans la régénération) et des bourgeons de régénération. Quelques expériences préliminaires nous ont montré qu'entre sérum anti-main et sérum anti-bras les différences étaient très faibles. Nous ne parlerons donc que de sérum anti-patte.

Nous avons toujours réservé dans nos expériences un lapin normal pour tester l'effet du sérum normal. Les tritons ont été divisés en différents lots de dix animaux au minimum, vingt au maximum. La régénération a été observée pendant trois mois au moins, avec des contrôles bihebdomadaires pendant le premier mois, hebdomadaires pendant les deux derniers.

a) Dans une première série d'expériences nous avons comparé la régénération de quatre lots de tritons: le premier est formé d'animaux auxquels on a coupé la patte au niveau du coude et auxquels on a laissé la régénération se faire normalement; nous les désignons comme animaux témoins; le deuxième comprend des animaux amputés recevant du sérum de lapin normal; le troisième est formé d'animaux amputés recevant du sérum anti-patte; et le quatrième, d'animaux amputés recevant du sérum de lapin anti-cerveau. Ces tritons ont reçu deux fois par semaine, en injection sous la peau du dos, 0,1 cc de sérum de lapin. Les injections ont été poursuivies pendant huit à dix semaines, la première datant du moment de l'amputation.

Nous avons résumé les résultats de cette expérience sur le graphique suivant (fig. 3), en donnant en fonction du temps la moyenne des longueurs des régénérats. Sans entrer dans le détail, nous signalons que nous avons soumis tous ces résultats à l'analyse statistique.

Il ressort de ce graphique que la régénération des témoins est très régulière, celle des animaux traités l'est beaucoup moins. Le sérum de lapin, même normal, injecté à des tritons en voie de régénération est capable de freiner cette régénération de façon appréciable, au moins jusqu'au quarante deuxième jour. Par la suite l'effet des injections diminue. Quant au sérum de lapin anti-patte il s'est révélé plus actif. Les calculs statistiques ont montré que la régénération a été freinée de façon significative (à P 0,05 et parfois P 0,01), aussi bien par rapport aux témoins sans traitement que par rapport aux animaux ayant reçu du sérum de lapin normal. Cette action inhibitrice marquée dès le début de l'expérience est encore mesurable au 84e jour. Quant au sérum de lapin « anti-cerveau », il occupe

[1] Pour les détails techniques se rapporter à nos notes précédentes, parues aux Archives des Sciences, Genève (1965-1966).

une position intermédiaire, mais il s'est montré moins efficace que celui de lapin anti-patte, il inhibe la régénération de façon plus prolongée que celui de lapin normal. Peut-être un tissu relativement pur donne-t-il naissance à moins d'anticorps qu'un broyat multivalent, peut-être s'agit-il d'une différence dans la réaction individuelle du lapin ?

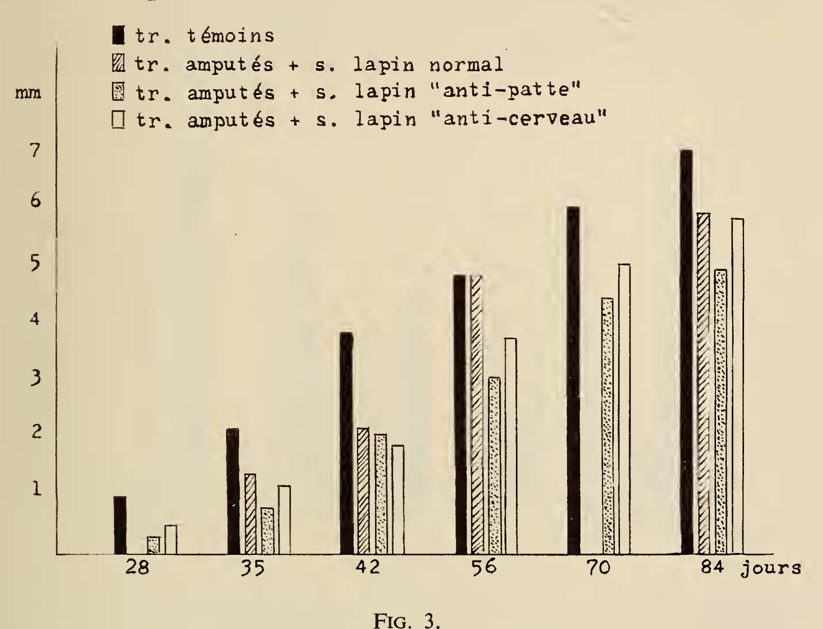


FIG. 3.

Graphique montrant l'effet d'injections de sérum de lapin normal, « anti-patte » et « anti-cerveau » sur la croissance des régénérats. Injection du sérum sous la peau du dos du trition.

b) Dans une deuxième série d'expériences, nous avons remplacé au quatrième lot de tritons le sérum de lapin « anti-cerveau », par du sérum de lapin « anti-bourgeon ». Le lapin avait été préparé avec des injections de broyats de bourgeons de régénération pris au plus tard au stade palette. La technique d'injection de sérum aux tritons a été la même que dans la première série d'expériences. Nous avons obtenu les résultats exprimés dans le graphique (fig. 4).

Jusqu'au quarante-deuxième jour, les tritons qui ont reçu du sérum de lapin normal et de lapin « anti-patte » ont régénéré moins rapidement que les témoins, et de façon significative, tandis que le freinage de la régénération est très peu marqué chez les tritons ayant reçu du sérum de lapin « anti-bourgeon ». Ces derniers ont commencé par régénérer même plus vite que les tritons recevant du sérum de lapin normal.

c) Enfin dans une troisième série d'expériences, nous avons tenté de modifier la technique d'injection de sérum aux tritons. Alors que précédemment cette

injection se faisait sous la peau du dos, nous avons cette fois essayé d'agir plus près du lieu de régénération. Les tritons étant amputés au coude, nous avons fait l'injection de sérum sous la peau du bras, à partir de l'épaule et le plus près

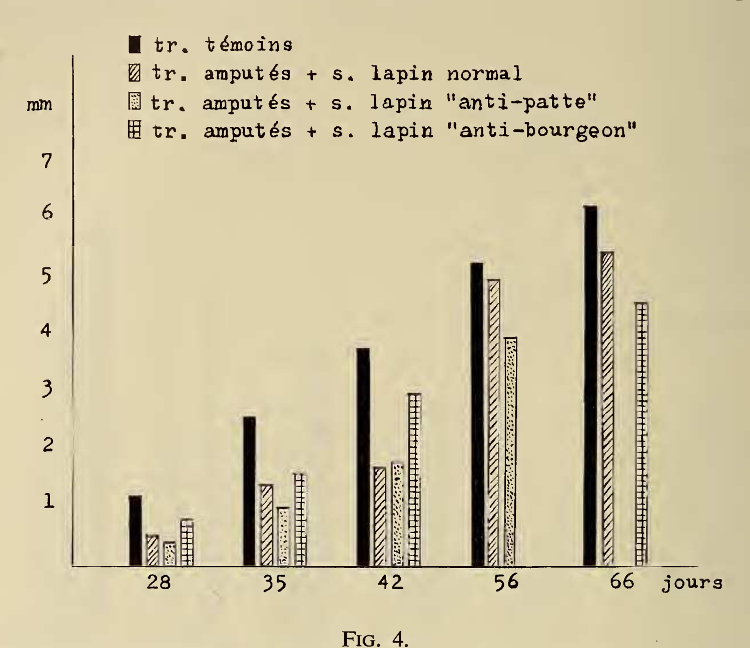


FIG. 4.

Graphique montrant l'effet de sérum de lapin normal, « anti-patte », et « anti-bourgeon » sur la croissance des régénérats. Injections du sérum sous la peau du dos du triton.

possible du moignon. Cependant, avec l'idée que par cette technique nous pouvions léser les tissus au voisinage du blastème, nous avons pris un nouveau lot de tritons recevant simplement du sérum physiologique (isotonique au sérum de lapin, $9^0/_{00}$).

Au départ de l'expérience nous avions donc les quatre lots suivants:

Tritons sans traitement, amputés.
Tritons amputés + sérum physiologique
Tritons amputés + sérum de lapin normal
Tritons amputés + sérum de lapin anti-patte.

Malheureusement nous avons eu la malchance de voir, après un mois de traitement, tous les tritons traités par le sérum de lapin normal mourir d'un jour à l'autre, après une injection. Nous pensons pouvoir l'expliquer par la mort du lapin deux jours plus tard. Nous avons néanmoins continué l'expérience avec les trois lots restants. Elle nous a conduit aux résultats donnés dans le graphique (fig. 5).

Le sérum de lapin anti-patte bloque complètement la régénération. De façon surprenante les injections de sérum physiologique freinent considérablement la régénération. Les moignons des tritons traités par le sérum anti-patte sont cependant beaucoup plus enflés, souvent blanchâtres, et la cicatrisation est très lente Jusqu'au 84e jour ces tritons ont reçu vingt-deux injections et il n'est apparu aucun bourgeon de régénération.

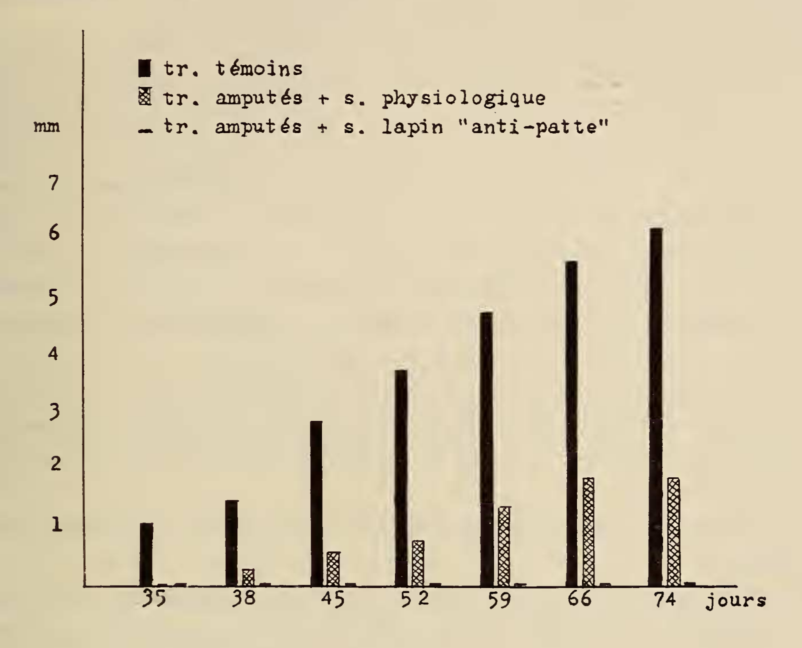


FIG. 5.

Graphique montrant l'effet d'injections de sérum physiologique et de sérum de lapin « anti-patte » à la base du moignon amputé. Avec le sérum de lapin « anti-patte » la régénération est totalement inhibée.

Nous avons repris la même expérience avec du sérum de lapin normal, sans avoir encore de résultats.

III. Histologie de régénérats colorés au sérum antitriton fluorescent [1]

Les tissus qui ont été examinés, en particulier les jeunes bourgeons, ont été prélevés et placés durant quelques minutes à une température de — 40°. Ils ont été ensuite coupés au microtome à congélation dans une ambiance de — 25°

[1] Pour certains détails techniques voir aussi nos notes précédentes (1965-1966).

environ. Les coupes sont placées sur lame, où elles se collent d'elles-mêmes. Elles sont ensuite soumises à l'action des différents sérums. Chaque sérum est laissé pendant environ trois-quart d'heure au contact de la coupe, avec lavages intermédiaires de dix minutes environ dans une solution tampon.

Pour les examens des premières séries de coupes nous avons utilisé comme colorants du sérum total de lapin, rendu fluorescent par adjonction d'isothiocyanate de fluorescéine. Par la suite nous avons isolé les immunoglobulines en les précipitant avec du sulfate d'ammonium, et en les passant sur un tamis moléculaire (colonne de gel de Séphadex n° 50). Une fois isolées les immunoglobulines ont été également marquées avec l'isothiocyanate de fluorescéine (RINDERKNECHT). Une partie des solutions a été utilisée tout de suite, le reste mis en ampoules avec un conservateur (Natrium-aethyl-mercurithiosalicylat) et gardé au congélateur.

Les coupes ont été soumises à plusieurs combinaisons de sérum: sérum normal non fluorescent, puis sérum normal fluorescent; sérum normal non fluorescent, puis sérum antitriton (antipatte) fluorescent; sérum antitriton non fluorescent puis sérum antitriton fluorescent; et les combinaisons inverses de ces trois combinaisons, enfin les six ont été refaites au moyen des immunoglobulines marquées ou non.

Les lectures de coupes ont été effectuées au moyen du microscope à lumière ultraviolette.

Parmi les tissus qui nous sont apparus les plus fluorescents nous nous sommes attachés à décrire l'épithélium. Il faut signaler que les trois tissus qui ont montré le plus de fluorescence ont été l'os, le muscle et l'épithélium. La fluorescence n'a d'ailleurs jamais été très forte.

Reprenons quelques-unes des combinaisons de coloration et voyons les résultats. Disons d'abord que les résultats donnés par les immunoglobulines ont été plus faciles à lire, que ceux des sérums totaux. A part cela ils ont donné des images correspondantes. Nous négligerons donc les différences et décrirons ensemble les résultats donnés par un sérum et les immunoglobulines qui en ont été isolées.

1. Les coupes soumises au sérum normal non fluorescent, puis au sérum normal fluorescent, sont d'une fluorescence générale assez faible. Au niveau de l'épithélium les cellules sont assez délavées et les contrastes entre cellules et à l'intérieur des cellules sont médiocres.

2. Les coupes soumises au sérum normal non fluorescent puis au sérum antitriton fluorescent sont d'une fluorescence générale assez faible également. Au niveau des noyaux des cellules épithéliales on voit de rares images de « trou ».

3. Avec le passage de sérum antitriton non fluorescent suivi de sérum antitriton fluorescent, les images de « trou » au niveau des noyaux des cellules épithé-

liales sont généralisées. Les noyaux épithéliaux sont presque tous optiquement vides. La fluorescence générale de la coupe est médiocre.

4. Sérum normal fluorescent suivi de sérum normal non fluorescent. La fluorescence générale de la coupe est un peu plus forte. Les différents tissus sont mieux différenciés, les contrastes meilleurs. Au niveau des noyaux épithéliaux qui sont devenus notre centre d'intérêt, on voit une fluorescence floue.

5. Les coupes soumises au sérum antitriton fluorescent puis au sérum normal non fluorescent montrent au niveau des noyaux épithéliaux un précipité fin, irrégulier, présent dans la grande majorité des cellules. Les contrastes sont bons.

6. Les images données par les coupes soumises au sérum antitriton fluorescent puis au sérum antitriton non fluorescent sont les mêmes que pour 5: précipités irréguliers dans la très grande majorité des noyaux des cellules épithéliales.

Nous ne nous attendions pas à de tels résultats. Nous avons d'abord pensé à des artefacts. Mais ces images se sont reproduites malgré les changements de lots de sérum. Des lectures et déterminations à « l'aveugle », ont donnés des réponses correctes. L'interprétation de ces précipités est difficile. Nous pensons qu'ils se trouvent à l'intérieur des cellules, en raison de l'épaisseur des coupes (8 μ et 6 μ). Il n'est cependant pas impossible qu'il s'agisse de précipités situés au niveau de la membrane nucléaire. De toute manière leur disparition presque complète après passage du sérum antitriton non fluorescent, laisse penser qu'il s'agit de précipités d'immunoglobulines.

Le passage de ces différents sérums sur un épithélium de patte normale ne donne pas les mêmes images que celles vues sur les bourgeons jeunes.

Les figures 6 et 7 montrent des photographies de coupes histologiques soumises aux différents sérums: antitriton fluorescent et antitriton non-fluorescent, suivi du même, mais fluorescent. Ces images pourraient éventuellement être interprétées comme les témoins d'une présence importante d'anticorps anti-noyaux.

Au niveau de la membrane séparant l'épithélium du conjonctif sous jacent, nous nous attendions à trouver des images fluorescentes. Il n'en a rien été, tout au plus avons-nous rencontré une fluorescence diffuse à l'endroit où cette membrane réapparaît, à la base du bourgeon.

Conclusions

L'effet cherché dans nos expériences est celui d'une dérépression par amputation au niveau du coude, puis d'une inhibition au moyen d'anticorps spécifiques. L'inhibition est nette, elle se produit certainement par action des anticorps de lapin sur les cellules en voie de formation dans le bourgeon.



Fig. 6.

Epithélium de bourgeon de régénération ayant été coloré avec un sérum de lapin anti-triton fluorescent. On voit des précipités au niveau des noyaux, fluorescence diffuse du protoplasme. Fort grossissement. Photo prise sur le microscope à ultra-violet.



Fig. 7.

Epithélium de bourgeon jeune. Coloration au sérum anti-triton non fluorescent puis au même fluorescent. Les zones correspondant aux noyaux paraissent optiquement vides. Même grossissement que 6.

L'anticorps aurait pu avoir tout au contraire un effet stimulant, en bloquant les protéines pattes en voie de formation il aurait pu conduire à une absence de structure ou au gigantisme. Son effet aurait alors été comparable à une dérépression par blocage du répresseur. (L'effet de l'amputation étant celui de l'élimination des répresseurs spécifiques !) On peut donc penser qu'une stimulation existe peut-être, mais qu'elle est masquée par le fort effet inhibiteur sur la croissance cellulaire.

Les immunoglobulines ont inhibé la croissance du régénérat essentiellement par action locale, pensons-nous. En effet, si des réactions d'ordre général, indirectes, existent très probablement, elles peuvent être négligées puisque le sérum de lapin antitriton injecté localement inhibe beaucoup plus la régénération que s'il est injecté par voie sous-cutanée éloignée.

Le peu de différence constaté entre l'effet des sérums « anti-main » et « anti-bras » permet de penser que le lapin n'est pas capable de « reconnaître » les différences subtiles qui existent entre les protéines de « main » de triton et celles de « bras ». Pour le moment nous admettons donc un effet « anti-triton ».

L'utilisation des anticorps fluorescents sur les coupes, nous a permis de voir des réactions au niveau des noyaux épithéliaux. L'interprétation de nos coupes est difficile, et pourtant la répétition des images obtenues nous incite à penser qu'elles correspondent bien à des réactions à ce niveau. Ces observations concordent avec celles des auteurs nombreux qui attribuent des capacités particulières de synthèse aux cellules épithéliales du jeune bourgeon (Thornton, Singer, Trompusch). Nous espérons que des perfectionnements techniques nous permettront de voir d'autres réactions tissulaires.

Résumé

Les auteurs ont observé l'effet de sérum de lapin préparé anti-triton sur des tritons en voie de régénération. L'effet obtenu est une inhibition significative de la régénération. Celle-ci est complètement stoppée si les injections sont effectuées dans le moignon lui-même.

Différents types de sérum de lapin anti-triton ont été testés, comparativement à des groupes de témoins différents.

Des examens de coupes histologiques à la congélation soumises à des anticorps fluorescents ont montré que dans l'épithélium de jeunes bourgeons des précipités se produisent, au niveau des noyaux. Le passage préalable d'un sérum anti-triton non fluorescent bloque probablement les sites et les noyaux paraissent alors optiquement vides. Ces cellules épithéliales sont donc très probablement le siège de synthèses protéiniques importantes, indispensables à la régénération.

Travail du laboratoire de Biologie de Chêne-Bougeries. Chemin du Pont-de-Ville, Genève.

Nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce travail, soit par des conseils, soit par le prêt d'instruments, et en particulier le Prof. HUGGEL, *le* Dr SCHEIDEGGER, *le* Dr CRUCHAUD, *le* Dr CIMASONI.

LISTE DES AUTEURS CITÉS

BISCHLER, V. 1926. *L'influence du squelette dans la régénération et les potentialités des divers territoires du membre chez Triton cristatus.* Thèse nº 798 Genève.

BOOBJERG, A. M. 1966. *Rejection of skin homografts in larvae of rana pipiens.* J. Exp. Zool. 162: 69-80.

BRENT, L. and G. GOWLAND. 1962. *Induction of tolerance of skin homografts in immunologically competent mice.* Nature (London) 196: 1298.

BUTLER, E. G. and J. O'BRIEN. 1942. *Effects of localized X-radiation on regeneration of the Urodele limb.* Anat. Record. 84: 407-413.

CLARKE, W. and I. FOWLER. 1960. *The inhibition of lens inducing capacity of the optic vesicle with adult lens antisera.* Develop. Biol. 2: 155.

FISCHBERG, M. and A. BLACKLER. 1963. *Nuclear changes during the differenciation of animal cells.* Symp. of the Society for Exp. Biol. Cambridge Univ.

GUYENOT, E., J. DINICHERT-FAVARGER and M. GALLAND. 1948. *L'exploration du territoire de la patte antérieure du Triton.* Rev. Suisse Zool. 55: f. 2.

— 1926. *Démonstration de l'existence de territoires spécifiques de régénération par la méthode de la déviation des troncs nerveux.* Rev. Suisse Zool. 94: 1050.

JACOB, F. and J. MONOD. 1964. *Genetic repression, allosteric inhibition and cellular differenciation.* In: Cyto-differenciation and macromolecular synthesis. M. Locke Ed. Acad. Press.

KIORTSIS, V. 1953. *Potentialités du territoire patte chez le Triton.* Rev. Suisse Zool. 60: nº 6, 301-410.

LANGMAN, J., H .MAISEL and J. SQUIRES. 1962. *The influence of lens antibodies on the development of lens-antigen containing tissues of the chick embryo.* J. Embryol. Exp. Morph. 10: 178.

LAUFER, H. 1959. *Immunochemical studies of muscle proteins in mature and regenerating limbs of the adult newt, Triturus viridescens.* J. of Embryol. and Exp. Morph. 7: 431-457.

LOCATELLI, P. 1923. *L'influenza del sistema nervoso sui processi regenerativi.* Gior. Biol. e Med. Sper. 4.

REYER, R. W. 1966. *The influence of neural retina and lens on the development of embryonic lens vesicles in Amblystoma punctatum and Triturus viridescens.* J. Exp. Zool. 162: 99-132.

ROSE, S. M. and J. A. POWERS. 1966. *Polarized inhibitory control of regional differenciation during regeneration in Tubularia. The effects of extracts from distal and proximal region.* Growth 30: nº 4, 419-428.

RINDERKNECHT, H. 1962. *Ultra-rapid fluorescent labelling of proteins.* Nature 193: 167-168.

SCHOTTE, O. 1926. *Hypophysectomie et régénération chez les Batraciens urodèles.* C. R. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève 43.

SERRE A. et J. THEODOR. 1967. *Mise en évidence d'une reconnaissance immunologique de tissus chez un Invertébré.* C. R. Acad. Sc. 264: 513.

SINGER, M. 1959. *The influence of nerves on regeneration, in Regeneration in Vertebrates* (Ed. C. S. Thornton). Univ. Chicago Press, 59-80.

— 1965. *A theory of the trophic nervous control of Amphibian limb regeneration, including a re-evaluation of quantitative nerve requirements.* Proc. Reg. in Animals; North-Holl. Publ. Co. Amsterdam.

SMITH, S. D. 1965. *The effects of electrophoretically separated lens proteins on lens regeneration in Diemectylus viridescens.* J. Exp. Zool. 159: 149-166.

SPEMAN, H. 1936. *Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung.* Springer Verlag. Berlin.

STONE, L. S. 1966. *Experiments dealing with the inhibition and release of lens regeneration in eyes of adult Newts.* J. Exp. Zool. 161: 83-94.

TABAN, C. 1955. *Quelques problèmes de régénération chez les Urodèles.* Rev. Suisse Zool. 62: 387-468.

— et P. CHAROLLAIS. 1965. *Contrôle immunologique de la régénération* (I). Arch. Sc. Gve. 18: 103-108.

— P. CHAROLLAIS et F. BERSIER. 1966. *Contrôle immunologique de la régénération chez le Triton* (II). C. R. SPHN Genève, NS v. 1, f. 1, 32-44.

— P. CHAROLLAIS et F. BERSIER. 1967. *Contrôle immunologique de la régénération chez le Triton* (III). C. R. SPHN Genève, NS.

THORNTON, C. 1958. *The inhibition of limb regeneration in urodele larvae by localised irradiation with ultraviolet light.* J. Exp. Zool. 137: 153-180.

TRAMPUSCH H.A.L. 1964. *Nerves as Morphogenetic Mediators in Regeneration.* Proc. in Brain Research. Elsevier Pub. Cy. Amsterdam - Londres - N.Y.

VOLPE, E. and B. GEBHARDT. 1965. *Effects of dosage on the survival of embryonic homotransplants in the leopard Frog, rana pipiens.* J. Exp. Zool. 160: 11-27.

YNTEMA, C. 1959. *Regeneration in sparsela innervated and aneurogenic forelimbs of Amblystoma larvae.* J. Exp. Zool. 140: 79-100.

ZALOKAR, M. 1944. *Contribution à l'étude de la régénération du cristallin chez le Triton.* Thèse n° 1070. Genève.
